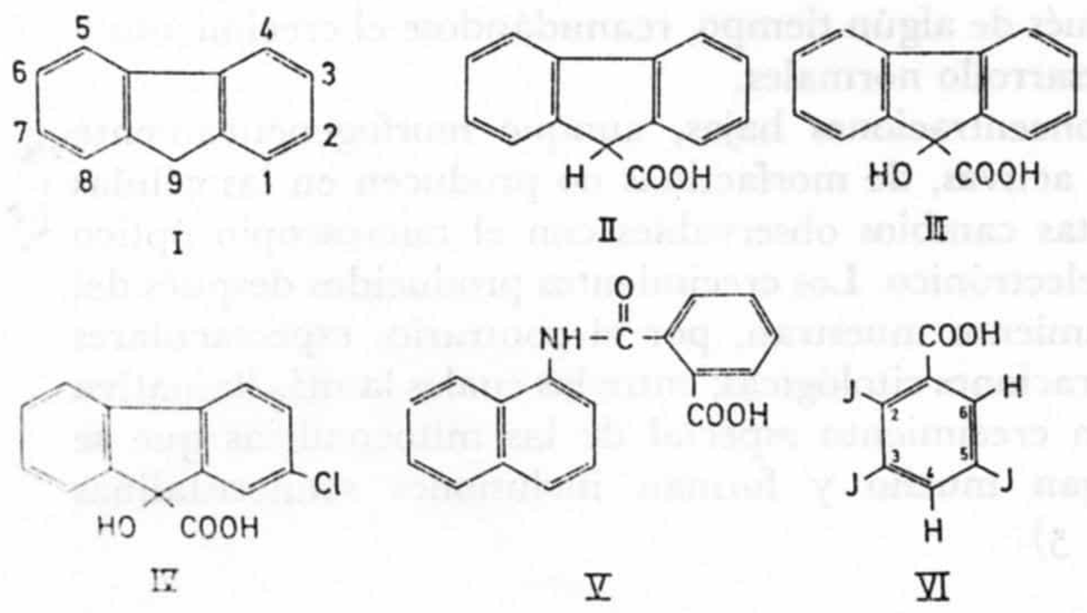
Las morfactinas

Hubert Ziegler

Las morfactinas son sustancias sintéticas del crecimiento derivadas del ácido fluorencarboxílico. Se caracterizan por ejercer una acción pronunciadísima sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas superiores, de lo cual toman su nombre. Utilizadas juntamente con otros reguladores del crecimiento prometen tener importancia práctica como herbicidas de cereales y prados.

Entre los compuestos sintéticos que afectan el crecimiento de las plantas, los derivados del fluoreno (I) han despertado especial atención en los últimos años [1]. En 1953 se demostró que el ácido fluorén-(9)-carboxílico (II) influye en la epinastia (curvatura del peciolo hacia abajo) de la hoja del tomate, así como en la prueba de Went (curvatura de trozos de tallo de guisante partidos longitudinalmente) [2]. Más tarde, quedó establecido que dicho compuesto influye también en el alargamiento internodal del guisante, pero no en el de los coleóptilos del trigo [3].

En los laboratorios de investigación de *Imperial Chemical Industries* se demostró en 1954 que el ácido fluorén-(9)-carboxílico inhibe el geotropismo y el fototropismo (curvaturas debidas, respectivamente, a la gravedad y a la luz) de diversas fanerógamas [4], lo cual se atribuyó, sin embargo, a su toxicidad general. En concentraciones considerablemente menores es claramente específico el influjo de ciertos derivados del compuesto II, tales como el ácido 9-hidroxifluorén-(9)-carboxílico (III) y, especialmente, el ácido 2-cloro-9-hidroxifluorén-(9)-carboxílico (IV); este último ha resultado ser uno de los más eficaces entre tales compuestos (Fig. 1). Efectos similares sobre los tropismos los ejercen, p.ej., el ácido N-α-naftilftalamínico, NAP(V), y el ácido 2-3-5-triyodobenzoico, ATIB (VI). Dado que es posible controlar la inhibición directa del funcionamiento de la auxina (regulador natural del crecimiento), ha de suponerse que dichas sustancias antitrópicas, incluidas las derivadas del fluoreno, deben influir sobre el desplazamiento lateral de la auxina que se produce normalmente en los órganos bajo el estímulo de la gravedad o de una iluminación unilateral y que es la causa de las curvaturas.



Efectos morfogenéticos de las morfactinas

Sin embargo, el interés por los derivados del ácido fluorén-carboxílico sólo se extendió luego de que quedase establecido en los laboratorios de investigación de Merck [5] el efecto, desusadamente poderoso, que ejercen sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas superiores, en una gama particularmente amplia de concentraciones (entre 10^{-2} y 10^{-7} M). Schneider idcó para todo este grupo de compuestos el nombre global de morfactinas (*morpho*genetically *act*ive substan*c*es). La Organización Internacional de Normalización (ISO) adoptó el nombre de flurenol para el ácido 9-hidroxifluorén-(9)-carboxílico (III), y el de cloroflurenol para su derivado 2-clorado (IV). En este artículo se utilizan tales nombres.

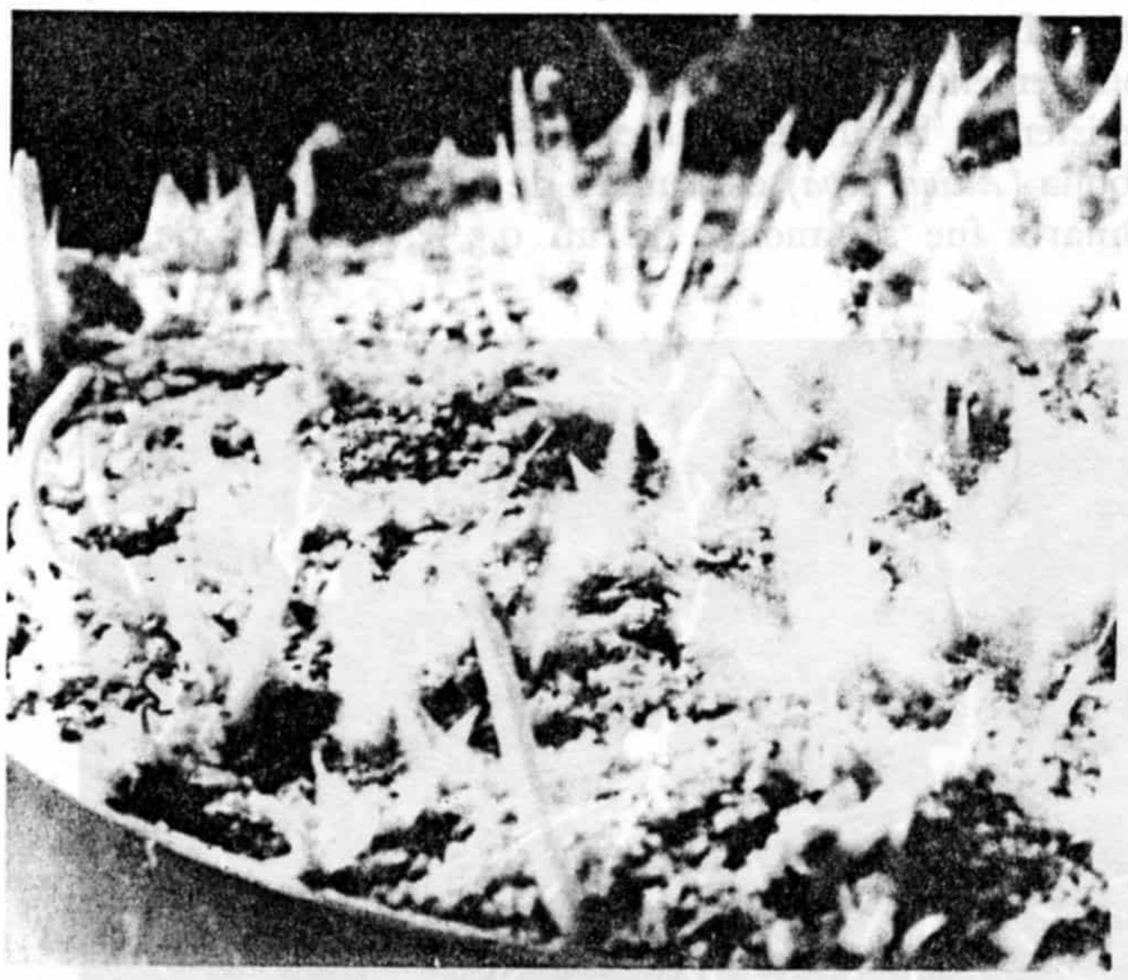


Figura 1 Plántulas de *Arena sativa*, de 4 días, cuyos granos se han sumergido en cloroflurenol 4×10^{-5} M. Las raíces (con pelos) crecen hacia arriba, saliendo del suelo (geotropismo negativo), mientras que los coleóptilos (sin pelos) se comportan normalmente (geotropismo también negativo). (×1,5)

Las morfactinas influyen muy poco en los órganos adultos, aunque pueden producir, p.ej., la abscisión de las hojas o la caída del ápice caular. Mucho más frecuentemente resultan afectadas las zonas de crecimiento: se acortan los entrenudos caulares, se reducen los limbos foliares y se perturba la dominancia apical (supresión de las ramas laterales por la yema apical), con lo que la ramificación aumenta. Las plantas que se han desarrollado bajo el influjo de una morfactina muestran, pues, un aspecto de arbusto enano (Fig. 2) con numerosas anomalías morfológicas, aunque, protegidas de la competencia con otras plantas, suelen sobrevivir y pueden florecer y aun fructificar, si bien, a veces, con flores deformadas. La acción de un único tratamiento con una morfactina dura solamente algún tiempo y, en general la planta reanuda pronto su crecimiento normal.

Otros efectos observables son: el desarrollo anormal

Hubert Ziegler

Nació en Regensburg en 1924; estudió y fue luego profesor en la Universidad de Munich, y es desde 1959 director del Instituto y Jardín Botánico de la Universidad Técnica de Darmstadt. Sus investigaciones versan principalmente sobre el metabolismo y el transporte de sustancias en los vegetales.

de los embriones en las semillas, la inhibición de la germinación, la interrupción de la expansión de las plantas en roseta, el cambio en el número y en la localización de los capullos florales y, finalmente, una fuerte inhibición de la formación de las raíces laterales (Fig. 2) [6, 7].

Estos espectaculares cambios son producidos por las morfactinas en las plantas pluricelulares con células apicales o meristemos. La división de las unicelulares no resulta afectada o, al menos, sólo lo es con dosis muy altas. En las plantas pluricelulares puede reducirse notablemente la velocidad de la división celular en los meristemos. En un experimento con puntas de raíces de cebolla (*Allium cepa*) el número de mitosis de los núcleos celulares fue solamente de un 0,5%, después de un

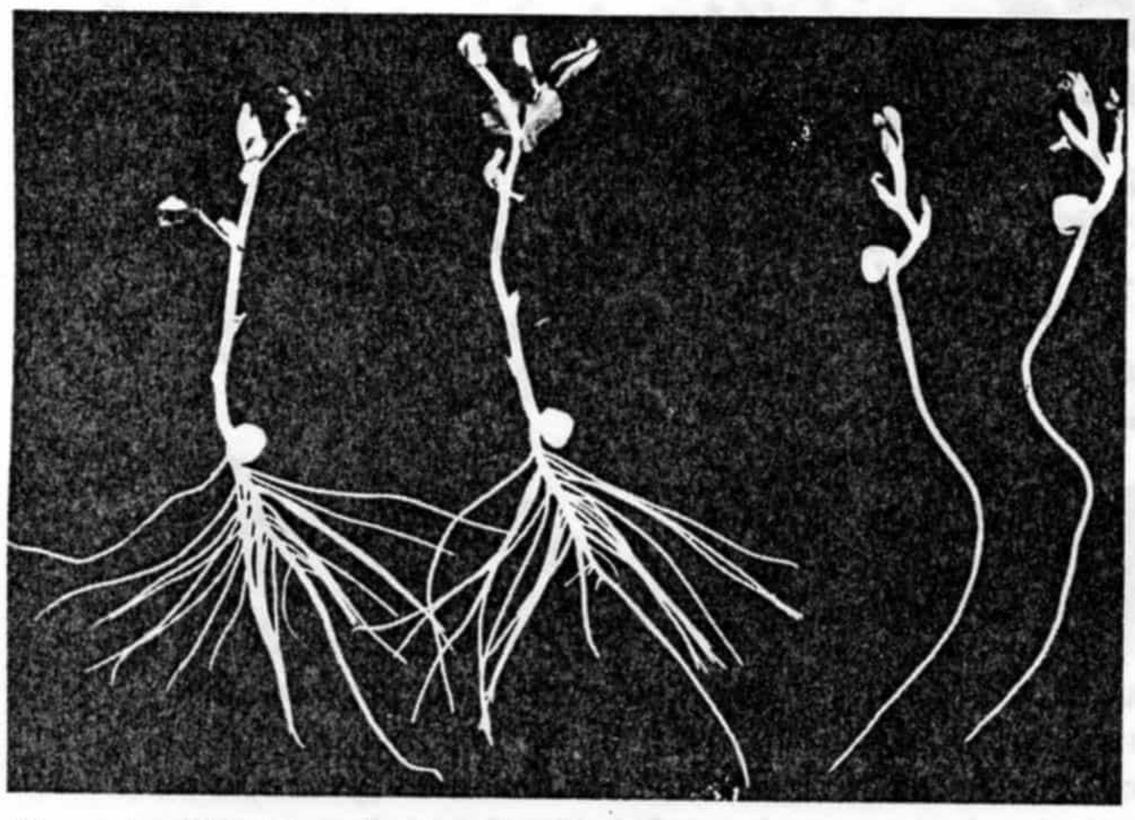


Figura 2 Plántulas de diez días de *Pisum sativum* (cultivar Kleine Rheinländerin). A la izquierda, dos plantas de control desarrolladas en agua; a la derecha, dos plantas producidas por semillas sumergidas durante 12 horas en cloroflurenol 5×10^{-5} M. La morfactina ha determinado el acortamiento de los entrenudos, la inhibición del crecimiento foliar y la supresión de las raíces laterales. No se ha inhibido el crecimiento de la raíz principal. ($\times \frac{1}{3}$)

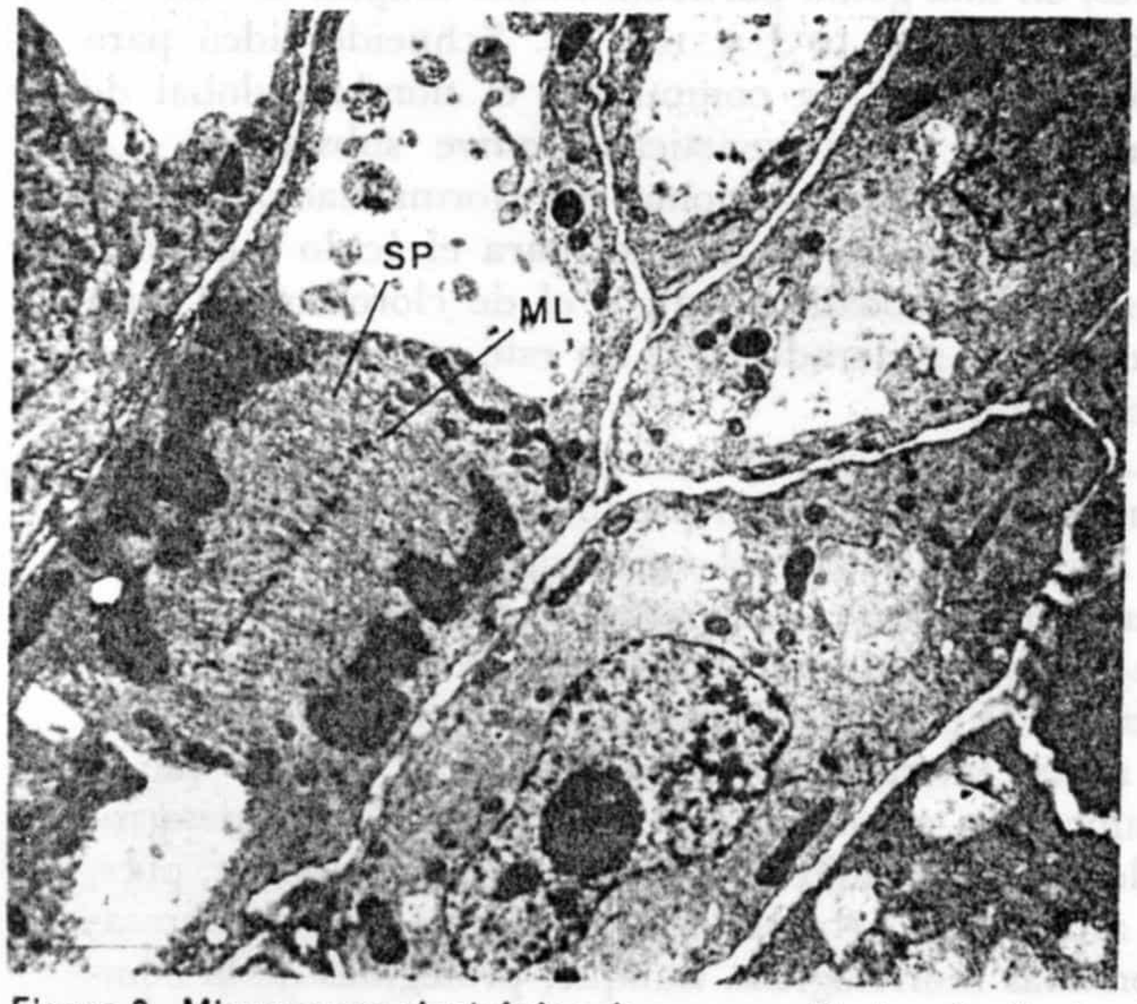


Figura 3 Micrograma electrónico de una sección longitudinal a través del ápice radicular de una planta de guisante (cultivar Grosshülsige Schnabel) desarrollada durante 8 días en cloroflurenol 5×10^{-5} M. El eje del huso acromático es perpendicular a la posición normal, es decir, al eje mayor de la célula. ($\times$ 3000) [9]. Para las Figs. 3, 4, 5 y 8: SP, huso; ML, lámina media: N, núcleo; CW, pared celular; S, almidón.

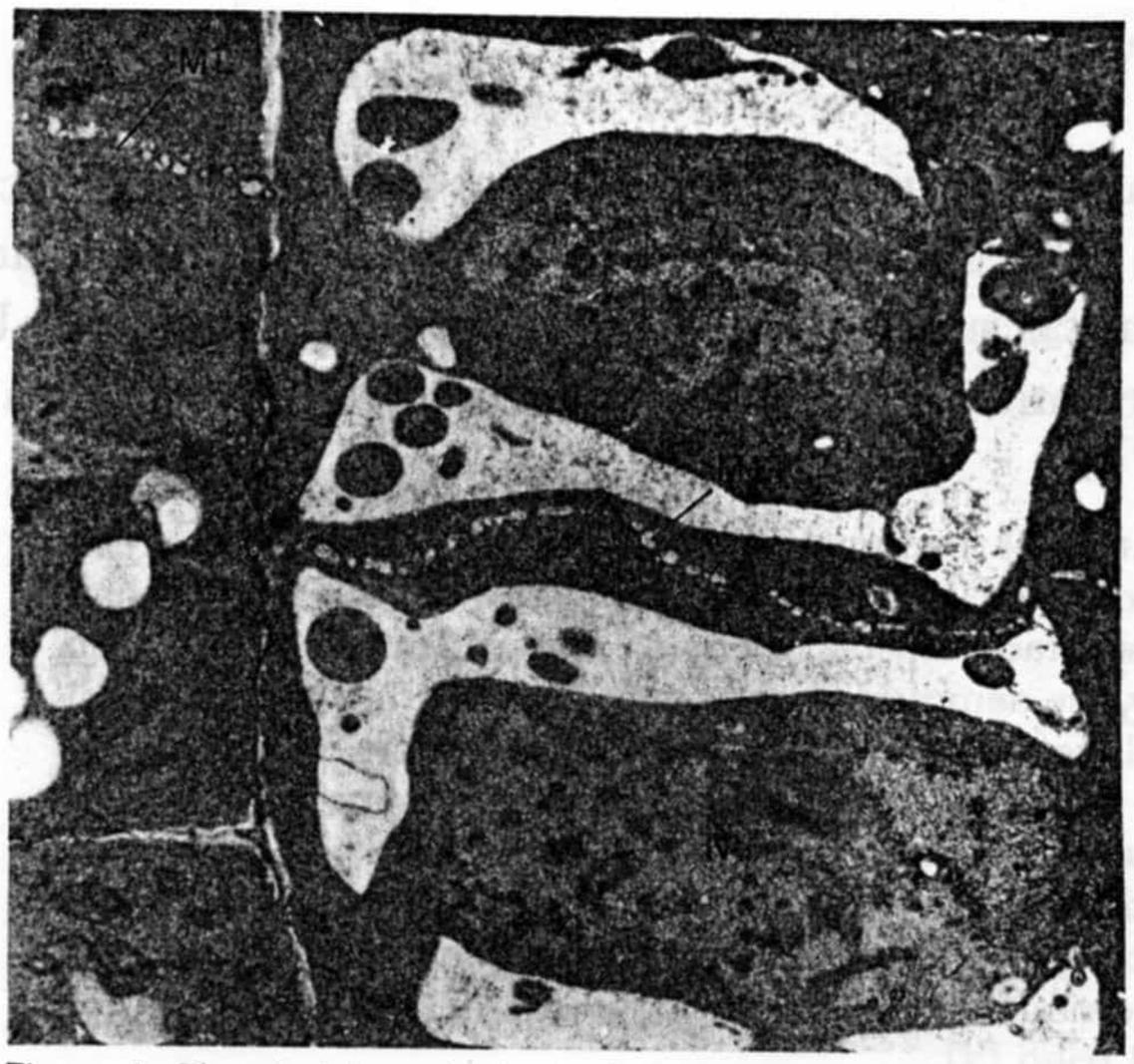


Figura 4 El material es el mismo de la Figura 3, pero la sección pertenece a la zona de diferenciación de los haces conductores. Las paredes transversales que separan las células hijas resultantes de las divisiones están aún en gran parte formando vesículas no coalescentes. ($\times$ 5700) [9].

tratamiento de 24 h con clorofurenol a la concentración de 0,1 ppm, mientras que en las plantas de control se dividieron un 5% [8]. Es particularmente observable y morfogenéticamente importante un cambio, en modo alguno raro, en la orientación del eje de los husos de las células en división (Fig. 3). Este cambio puede afectar considerablemente la forma de crecimiento del órgano y, junto con la mayor lentitud de la división celular, es probablemente el responsable de la formación anormal de individuos enanos, que ya hemos descrito como característica de las plantas tratadas con morfactinas.

También éstas interfieren en el desarrollo del tabique intercelular que, finalmente, separa las dos células hijas resultantes de una división. En todo caso, en los ápices radiculares de guisantes tratados con morfactinas se producen muchas mitosis en las cuales las vesículas situadas en el plano ecuatorial no se fusionan, aunque los núcleos hijos hayan llegado a la interfase (Fig. 4). Estas perturbaciones de la división celular desaparecen después de algún tiempo, reanudándose el crecimiento y el desarrollo normales.

Concentraciones bajas, aunque morfogenéticamente muy activas, de morfactinas no producen en las células adultas cambios observables con el microscopio óptico o el electrónico. Los crecimientos producidos después del tratamiento muestran, por el contrario, espectaculares aberraciones citológicas, entre las cuales la más llamativa es un crecimiento especial de las mitocondrias que se alargan mucho y forman inclusiones semicristalinas (Fig. 5).

Efectos metabólicos de las morfactinas

A diferencia de otros herbicidas, el cloroflurenol no suele influir sobre los intercambios gaseosos respiratorios y fotosintéticos, en tanto que no haya efecto visible sobre el crecimiento del órgano afectado. La fotofosforilación y la fijación del $^{14}CO_2$ por cloroplastos aislados de espinaca tampoco resultan afectadas por cloroflurenol 10^{-5} M. No obstante, raíces originadas de guisantes tratados con

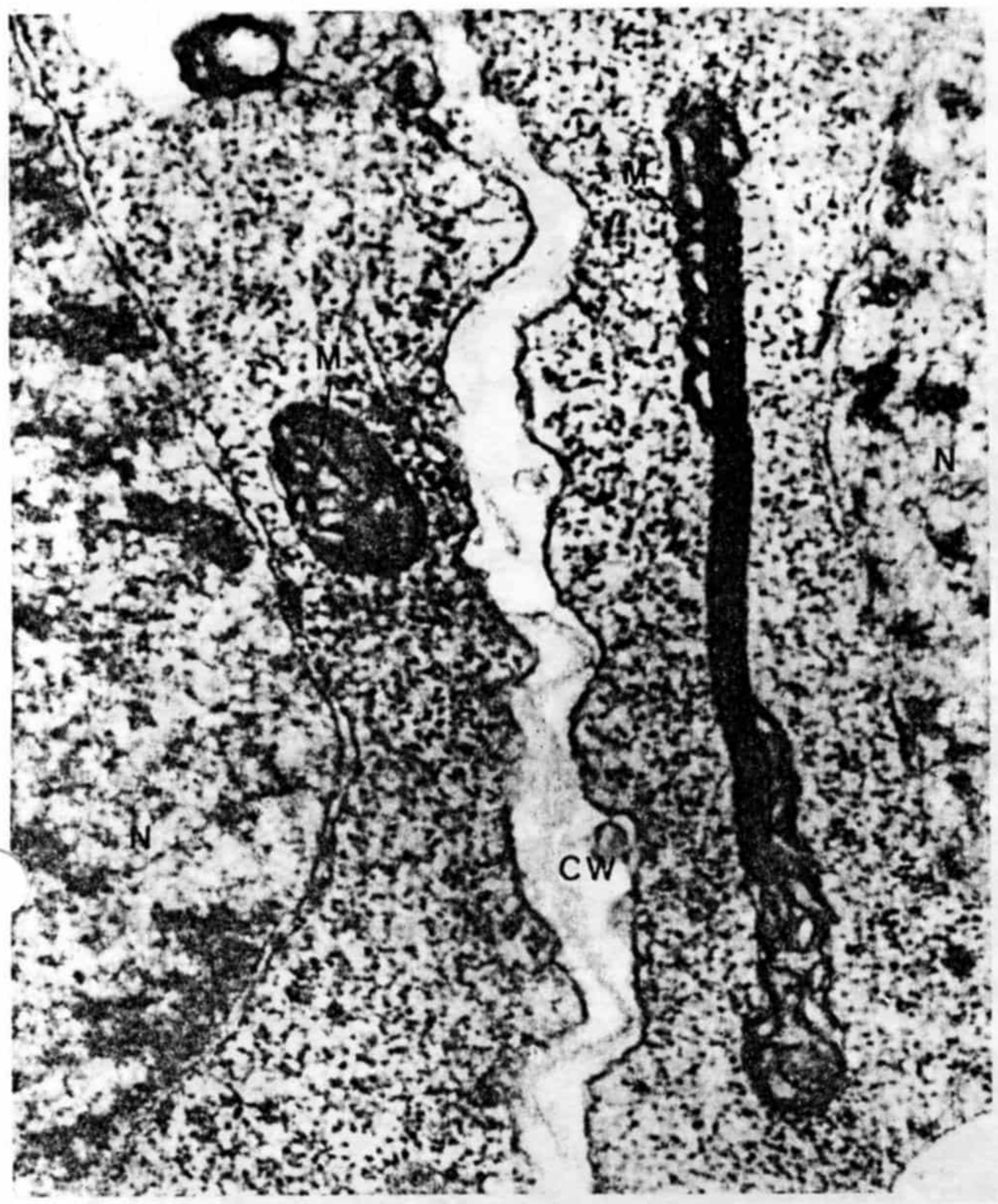
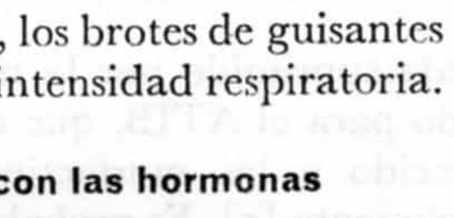


Figura 5 El mismo material de la Figura 3: ápice de la raíz. Mitocondria alargada (M), con una inclusión semicristalina. (×34 700) [9].

cloroflurenol mostraron un considerable incremento respiratorio en comparación con los controles. No está aún claro si esto tenía relación con la estructura alterada de las mitocondrias; por el contrario, los brotes de guisantes mostraron una disminución en la intensidad respiratoria.

Interrelaciones de las morfactinas con las hormonas naturales del crecimiento

Diversos testimonios, en particular la inhibición del crecimiento longitudinal en las plantas superiores y su reversión parcial por el ácido giberélico, así como una interacción análoga en la germinación [10], señalaban un antagonismo entre las morfactinas y las giberelinas. La síntesis de la giberelina en el *Fusarium moniliforme* no estaba inhibida por las morfactinas, por lo que se estimó verosímil una interacción competitiva entre las giberelinas y las morfactinas [11]. La semejanza aparente entre la estructura de los fluorenos y la del núcleo gibano de las giberelinas (VII) también parecía apuntar en esta falsa dirección. Las estructuras moleculares tridimensionales de las morfactinas y giberelinas son en realidad muy distintas [12], por lo que no es sorprendente que un ulterior análisis revelase la inexistencia de una interacción directa de ambas clases de reguladores del crecimiento. Lo más importante de todo, la acción más típica de las giberelinas, la activación de la amilasa en los endospermos de cebada sin embriones, no resultó influida por las morfactinas [13].



VII

El cloruro de clorocolina, CCC, que, como es bien sabido, provoca también el enanismo, se opone a la formación de giberelina y actúa en este sentido. El cloroflurenol se diferencia también del CCC en que inhibe mucho más la elongación de los brotes de guisantes en la oscuridad que a la luz, mientras que el CCC actúa en sentido contrario (Fig. 6). El crecimiento en la oscuridad depende, pues, predominantemente de un sistema sensible al cloroflurenol, mientras que el crecimiento a la luz depende de otro sistema sensible al CCC [14]. Puesto que el CCC hace disminuir el nivel de giberelina, el ácido giberélico es capaz de invertir su acción inhibidora a la luz, y este efecto puede evitarse casi totalmente por el cloroflurenol. En verdad, la giberelina es muy eficaz en ausencia de cloroflurenol, pero no en su presencia. El proceso inhibido por el cloroflurenol que, con toda evidencia, es el principal determinante del crecimiento en la oscuridad — cuando el sistema regulado por la giberelina no actúa — debe, pues, acoplarse a la luz con el sistema influido por la giberelina y el CCC, aunque actúe más lentamente en estas circunstancias que en la oscuridad. Puesto que el crecimiento de brotes de guisante, sin adición de sustancias externas del crecimiento, es casi el mismo a la luz y en la oscuridad, es de presumir que ambos procesos actúen compensándose (Fig. 7).

Dado que la giberelina es un requisito previo para la acción de la auxina [15], es posible que ésta represente un papel en el proceso sensible al cloroflurenol. Ahora bien: ¿cómo afectan las morfactinas a la economía de la auxina (ácido β-indolilacético, AIA) en las plantas superiores? Estimaciones del AIA contenido en las raíces de guisantes tratados con cloroflurenol indican una disminución definida de la cantidad de AIA que existe en sus tejidos, tanto en el extremo de la raíz como en el trozo inmediatamente próximo a él. También se comprobó que las raíces de guisantes germinados en cloroflurenol 10^{-5} M mostraban una mayor actividad de la

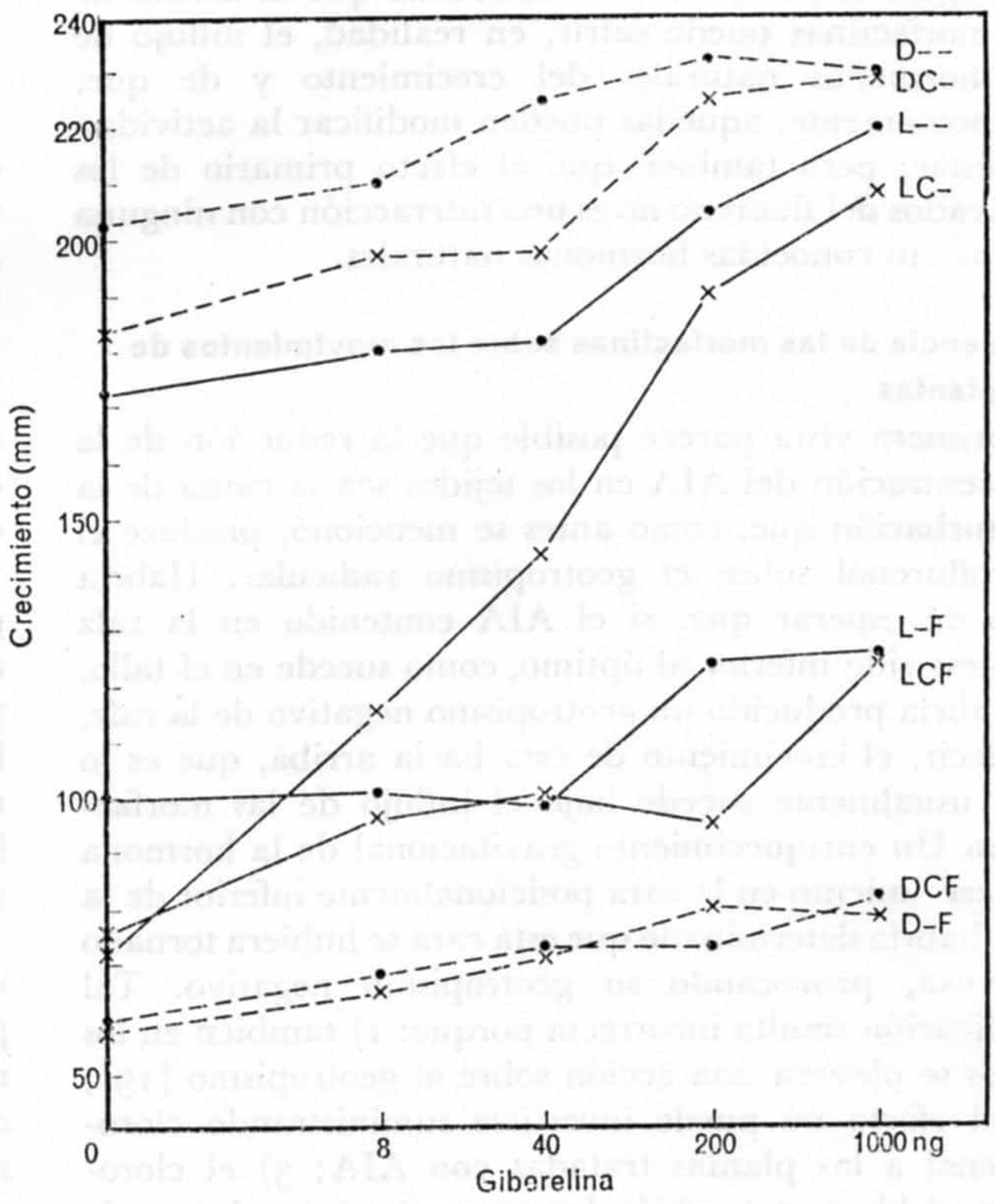


Figura 6 Crecimiento de guisantes a la luz (L) o en la oscuridad (D); sobre CCC al 2,5 ml/l (C) o sobre agua (—); con 390 ng de cloroflurenol por planta (F) o sin cloroflurenol (—), y con cantidades variables de giberelina (en abscisas) [14].

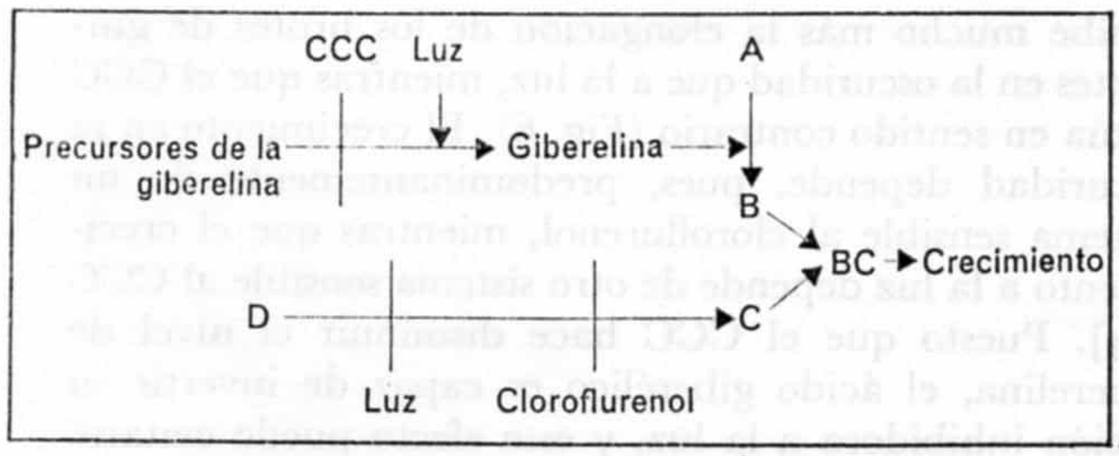


Figura 7 Diagrama de los puntos donde posiblemente actúan el CCC y el cloroflurenol [14].

AIA-oxidasa (enzima destructora del AIA), y es posible que ésta sea la causa de la disminución en la concentración del AIA.

Las morfactinas influyen, además en la economía del AIA por otro camino: inhiben su transporte hacia abajo desde la yema apical [16], y es muy posible que a esto se deba la inhibición antes citada de la dominancia apical [17]. Si una corriente análoga de auxina determina la orientación del huso acromático en la división celular — lo cual es posible, aunque no esté probado — esta inhibición del movimiento polar de la auxina podría utilizarse también para explicar el influjo de las morfactinas sobre la orientación del huso. Así, pues, las actividades de los reguladores del crecimiento derivados del flurenol y las del AIA presentan varias conexiones, pero las morfactinas no son verdaderos antagonistas del AIA. Como veremos luego, la mayoría de sus efectos no pueden invertirse con un suministro adicional de AIA, p.ej.

Finalmente, el cloroflurenol se comporta de un modo similar a la cinetina en cuanto a provocar la regeneración en los discos foliares de begonia, pero también en este caso el efecto es solamente análogo.

Llegamos, pues, a la conclusión de que la acción de las morfactinas puede sufrir, en realidad, el influjo de las hormonas naturales del crecimiento y de que, recíprocamente, aquéllas pueden modificar la actividad de éstas; pero también que el efecto primario de los derivados del fluoreno no es una interacción con ninguna de las tan conocidas hormonas naturales.

Influencia de las morfactinas sobre los movimientos de las plantas

A primera vista parece posible que la reducción de la concentración del AIA en los tejidos sea la causa de la perturbación que, como antes se mencionó, produce el cloroflurenol sobre el geotropismo radicular. Habría sido de esperar que, si el AIA contenido en la raíz hubiese sido inferior al óptimo, como sucede en el tallo, se habría producido un geotropismo negativo de la raíz, es decir, el crecimiento de ésta hacia arriba, que es lo que usualmente sucede bajo el influjo de las morfactinas. Un enriquecimiento gravitacional de la hormona del crecimiento en la cara posicionalmente inferior de la raíz habría determinado que esta cara se hubiera tornado convexa, provocando su geotropismo negativo. Tal explicación resulta incorrecta porque: 1) también en los tallos se observa una acción sobre el geotropismo [19]; 2) el efecto no puede invertirse suministrando cloroflurenol a las plantas tratadas con AIA; 3) el cloroflurenol bloquea también las respuestas fototrópicas de las plantas superiores [4, 19].

Es probable que la explicación correcta sea la antes esbozada, según la cual el transporte lateral del AIA queda suprimido por la morfactina. Esto se ha demostrado para el ATIB, que es también antitrópico y muy parecido a las morfactinas en sus acciones sobre el crecimiento [5]. Es probable que las morfactinas ejerzan ese efecto, según se deduce de la siguiente observación: una curvatura de los hipocótilos del pepino, producida aplicando en sus lados opuestos pastas de AIA de distintas concentraciones, se intensificó considerablemente (de 10,5° a 40,2°) mediante un tratamiento previo de las plántulas con una morfactina. Probablemente el regulador del crecimiento impidió que disminuyese la diferencia de concentraciones entre ambos lados: es decir, resultó inhibido el transporte lateral del AIA.

Puesto que los flurenoles afectan similarmente al geotropismo y al fototropismo, es lógico pensar que en ambas inhibiciones se produzca la misma reacción primaria. Esto implica, sin embargo, que el transporte lateral de auxina bajo el influjo de una iluminación unilateral provoca un fototropismo y no una destrucción fotocatalizada de auxina, como en ocasiones se ha supuesto.

Es de notar que el crecimiento hacia arriba de las raíces bajo el influjo del cloroflurenol muestra un desplazamiento normal de los estatolitos en la cofia de la raíz, los cuales se mueven siempre hacia el lado situado más abajo (Fig. 8). Por supuesto, esto no significa forzosamente que tales orgánulos no intervengan normalmente en la percepción gravitacional; pero sí que la curvatura de la raíz no siempre está exclusivamente determinada por la posición de los amiloplastos estatolíticos.

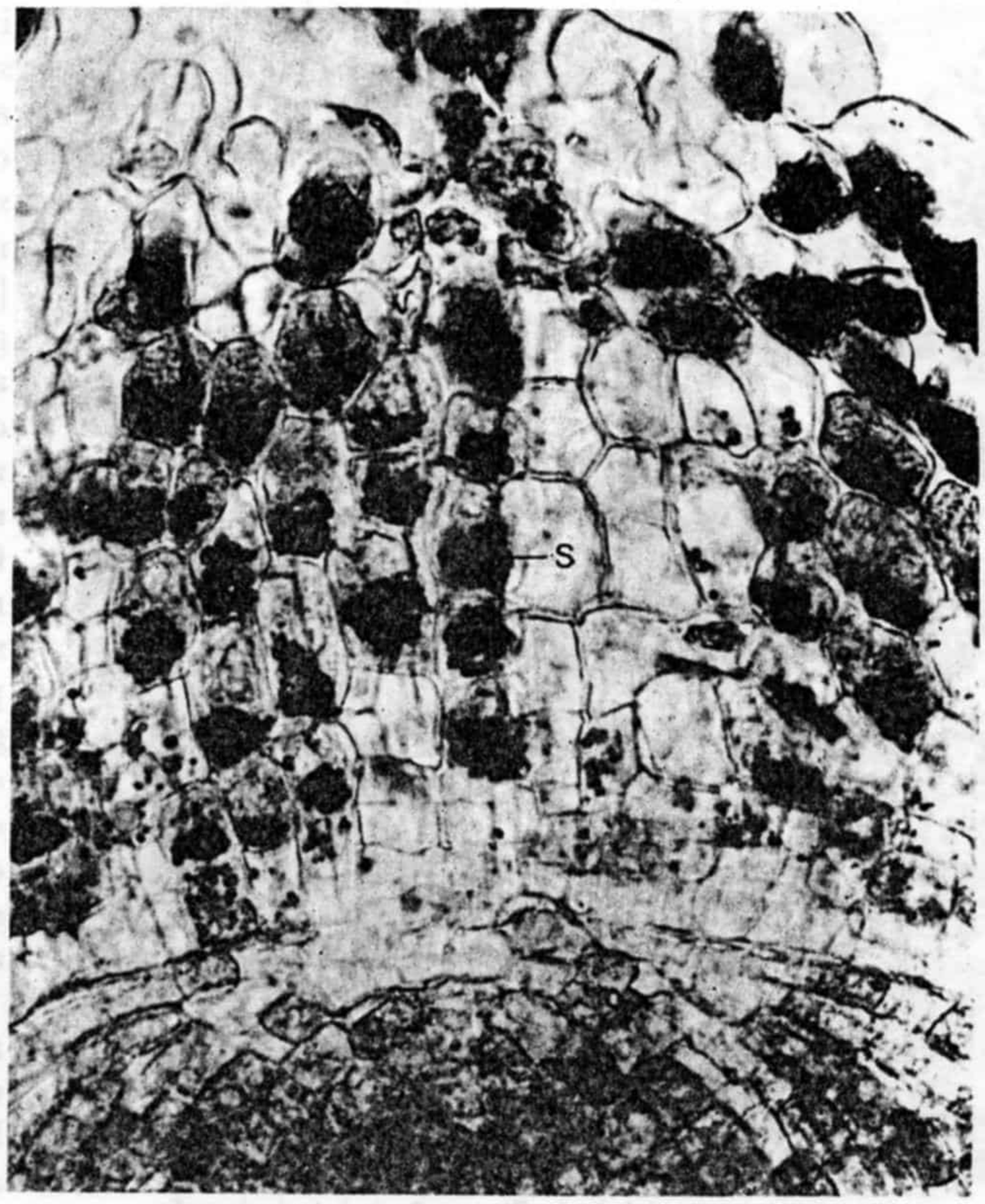


Figura 8 Sección longitudinal de un ápice radicular de *Zea mais* que ha crecido verticalmente hacia arriba (con geotropismo negativo) como resultado del tratamiento con flurenol. Los estatolitos amiláceos de la cofia están teñidos con solución de yodo en yoduro potásico, por lo que aparecen oscuros. (×390) [22].

La ausencia de sensibilidad geotrópica, producida por la morfactina, es particularmente notable cuando la posición normal de un órgano depende de una interacción del geotropismo y de una nastia (en la que la dirección del movimiento está dictada por la arquitectura del órgano, y el estímulo solamente produce la inducción). Definitivamente, los derivados del fluoreno no afectan a las nastias. Por así decirlo, se puede emplear las morfactinas (y quizá también las restantes sustancias antitrópicas) como «clinostatos químicos» para eliminar el geotropismo. Ejemplos de apariciones no obstruidas de las nastias, bajo tratamiento con morfactinas, son: el abarquillamiento hacia arriba de los bordes del talo en la marcantia *Conocephalum conicum;* el encorvamiento (convexidad de la cara superior) de las hojas del helecho llamado cuerna de ciervo, *Platycerium*, así llamado por el aspecto ramificado de dichas hojas, y el crecimiento hacia abajo de los brotes de *Zebrina pendula*, que normalmente curvan sus extremos hacia la posición horizontal bajo el influjo de un geotropismo negativo.

Es posible que las sustancias antitrópicas puedan convertirse en auxiliares importantes para los fitofisiólogos en el análisis causal de los movimientos vegetales.

Transporte y reacciones de las morfactinas en las plantas

El desplazamiento de las morfactinas se estudió por medio del flurenol-*n*-butiléster-9-^{14}C, que se comporta como el flurenol. Los movimientos acro y basipetálicos a través del parénquima (en cilindros de coleóptilo de maíz de 5 mm de longitud) mostraron velocidades iguales; la velocidad, fuertemente influida por la temperatura, resultó ser, a 4°C, cinco veces menor que a 25°C [9].

Para mayores distancias, dentro de la planta, la autorradiografía muestra que la conducción del compuesto se realiza predominantemente por el floema [12], y que se transmite a partir del punto de su aplicación, sobre todo en las regiones más recientes, aún en crecimiento; p.ej., en el meristemo apical y en las hojas jóvenes. Que la sustancia marcada viaja realmente por los tubos cribosos se patentiza por el hecho de que se puede demostrar su presencia en los jugos azucarados de los áfidos que chupan aquéllos. El experimento se realizó con el *Aphis fabae*, que vive en el haba, *Vicia faba* [9]. En casos excepcionales la morfactina puede pasar a los haces conductores del xilema; al menos esto se ha comprobado en el líquido de gutación de las plántulas de roble, que, en efecto, es segregado por el xilema [23].

Un detalle importante para la utilización práctica de las morfactinas es su conversión relativamente rápida, posiblemente en glucósidos, y su deposición en una forma que ya no puede desplazarse [12]. Plantas de trigo a las que se suministró una morfactina marcada contenían al cabo de un día casi toda la sustancia inalterada, mientras que a los tres días aparecieron ya los productos de la transformación y, a los nueve, no pudo ponerse de manifiesto la sustancia inicial. Entre tanto, una cantidad cada vez mayor de sustancia radiactiva se convertía en una forma insoluble. A esto puede atribuirse el hecho de que, en el trigo, 30 días después de aplicar el regulador del crecimiento, las partes recién formadas no reciban ya radiactividad debida al desplazamiento. Si la morfactina se suministra en el momento adecuado no hay peligro de que ella o sus derivados metabólicos lleguen al grano del cereal, ni por tanto, a la harina.

Aplicación práctica de las morfactinas

Hasta ahora, este grupo de sustancias tiene dos posibles aplicaciones prácticas. Una de ellas es el retardo del crecimiento por vía química, campo en el cual sobresalen, en cuanto a la amplitud de su acción, las combinaciones con la hidrazida maleica (HM): el cloroflurenol ataca las plantas de hoja amplia, y la HM las hierbas de hoja estrecha. La asociación de los flurenoles con los derivados del ácido fenoxiacético da compuestos herbicidas que se utilizan para combatir las malas hierbas en los cultivos de cereales y en los céspedes. Debido a la acción sinergística de ambos grupos de sustancias, las malas hierbas mueren rápidamente, o bien su crecimiento se retarda hasta que la planta objeto de cultivo las domina y, luego la falta de luz las destruye. En sus primeros estadios, sin embargo, protegen al suelo de la desecación y de la erosión. Empero, no podemos preveer si nuevos tipos de aplicación llegaran a tener alguna importancia práctica. El futuro puede ser más prometedor en la aplicación de las morfactinas unidas a otros reguladores del crecimiento que de las aisladas.

Referencias

[1] Mohr, G. y Ziegler, H. «Symposium Morphaktine». Vorträge aus dem Gesamtgebiet der Botanik. Nueva Serie 3, G. Fischer-Verlag, Stuttgart. 1969.
[2] Wain, R. T. «Plant growth substances». Royal Inst. of Chemistry Monograph No. 2, 1953.
[3] Heacock, R. A., Wain, R. L. y Wightman, F. *Ann. appl. Biol.*, **46**, 352, 1958.
[4] Jones, R. L., Metcalfe, T. P. y Secton, W. A. *J. Sci. Fd Agric.*, **5**, 32, 1954.
[5] Schneider, G. *Naturwissenschaften*, **51**, 416, 1964.
[6] *Idem.* en [1].
[7] Haccius, B. en [1].
[8] Denffer, D. von, Fricke, G. y Ringe, F. en [1].
[9] Treichel, S. (Información no publicada).
[10] Sankhla, N. y Sankhla, D. *Biologia Pl.*, **10**, 37, 1968.
[11] Ziegler, H., Köhler, D. y Streitz, B. *Z. Pflanzenphysiol.*, **54**, 118, 1966.
[12] Mohr, G. en [1].
[13] Tognoni, F., De Hertogh, A. A. y Wittwer, S. H. *Pl. Cell Physiol.*, **8**, 231, 1967.
[14] Köhler, D. *Planta*, **79**, 50, 1968.
[15] Ockerse, R. y Galston, A. W. *Pl. Physiol.*, **42**, 47, 1967.
Tanimoto, E., Tanagishima, N. y Masuda, Y. *Physiol. Pl.*, **20**, 291, 1967.
[16] Krelle, E. y Libbert, E. *Planta*, **80**, 317, 1968.
[17] Tognoni, F. y Alpi, A. en [1].
[18] Schraudolf, H. y Schott, H. H. en [1].
[19] Khan, A. A. *Fm Res.*, **32**, 2, 1966; *Idem. Physiol. Pl.*, **20**, 306, 1967; Harada, H. *Naturwissenschaften*, **54**, 95, 1967.
[20] Fuente, R. K. de la y Leopold, A. C. En «Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances» Runge Press, Ottawa. 1968.
[21] Bopp, M. en [1].
[22] Pitz, O. (Información no publicada).
[23] Ziegler, H. y Vogt, I. *Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz*, Sonderheft IV, 115, 1968.